

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201911017

## 不同钙浓度对喜钙和嫌钙型金花茶光合及生理指标的影响

柴胜丰, 付 嵘, 邹 蓉, 唐健民, 史艳财, 韦记青\*

(广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室, [广西壮族自治区中国科学院](#)  
广西植物研究所, 桂林 541006)

**摘 要:** 采用砂培法, 分别以 2 种喜钙型金花茶[直脉金花茶 (*Camellia multipetala*) 和柠檬金花茶 (*C. limonia*)]和 2 种嫌钙型金花茶[金花茶 (*Camellia nitidissima*) 和东兴金花茶 (*C. tungghinensis*)]幼苗为试验材料, 用不同浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  (设为 5、25、50、100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 营养液进行培养, 研究其对两种不同类型金花茶的光合及生理指标的影响, 以期探讨喜钙型金花茶对高钙环境的生理适应机制, 分析嫌钙型金花茶的避钙机理。结果表明: 两种嫌钙型金花茶的净光合速率  $P_n$ 、气孔导度  $G_s$ 、实际光化学效率  $\Phi\text{PSII}$ 、电子传递效率 ETR、Chl a、Chl b、Chl 总量等均随  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高而降低, 表明高钙环境降低了嫌钙型金花茶的光合能力; 喜钙型金花茶的这些指标在不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下并无显著变化, 高钙环境并未影响其光合作用的正常进行。嫌钙型金花茶叶片丙二醛含量和 PSII 最大光化学效率  $F_v/F_m$  在高钙环境下并未有显著变化, 表明其光合膜系统还未受到伤害。随着  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高, 嫌钙型金花茶叶片脯氨酸含量显著增加, 而可溶性糖含量变化并不大; 喜钙型金花茶在不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下脯氨酸和可溶性糖含量的变化均不明显, 但其可溶性糖的含量明显高于嫌钙型金花茶。喜钙型金花茶对外界钙浓度的变化并不敏感, 其适应高钙的生理机制可能与叶片较高的可溶性糖含量有关; 而嫌钙型金花茶对高钙环境的适应性较差, 这可能是其不能在钙质土上生长的主要原因。

**关键词:** 金花茶, 喜钙, 嫌钙, 光合, 荧光, 生理**中图分类号:** Q945.79 **文献标识码** A **文章编号:**Effects of different calcium concentrations on photosynthetic and physiological indexes of calcicole- and calcifuge-type golden *Camellia*

CHAI Shengfeng, FU Rong, ZOU Rong, TANG Jianmin, SHI Yancai, WEI Jiqing \*

(Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

**Abstract:** In order to explore the physiological adaptation mechanism of calcicole-type golden *Camellia* to high calcium environment and analyze the main reasons that the calcifuge-type golden

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(31660092, 31860169); 广西创新驱动发展专项资金项目(桂科 AA17204056, AA18118049); 中央引导地方科技发展专项资金(桂科 ZY1949013); 广西植物研究所基本业务费项目(桂植业 19002) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31660092, 31860169), the Special Project on Innovation Driven Development of Guangxi (GuikeAA17204056, AA18118049), the Special Funds for Local Science and Technology Development Guided by the Central Committee (ZY1949013) and the Fundamental Research Funds of GXIB(19002)]

**作者简介:** 柴胜丰(1980-), 男, 湖南益阳人, 博士, 副研究员, 主要从事珍稀濒危植物保育及可持续利用方面的研究, (E-mail) sfchai@163.com。

**\*通信作者:** 韦记青, 学士, 研究员, 主要从事植物保育生物学研究, (E-mail) weijq@gxib.cn。

Camellia can not grow on calcareous soil, a pot experiment was conducted with two species of calcicole-type golden Camellia (*Camellia multipetala* and *C. limonia*) and two species of calcifuge-type golden Camellia (*C. nitidissima* and *C. tunghinensis*) seedlings. To exclude the influences from other confounding factors, each pot was filled with sand instead of soil. The seedlings were treated with four Ca levels, i.e. 5, 25, 50, 100 mmol·L<sup>-1</sup>. The photosynthetic and physiological indexes of two different types of golden Camellia were measured. The results showed that the net photosynthetic rate  $P_n$ , stomatal conductance  $G_s$ , actual photochemical efficiency  $\Phi_{PSII}$ , electron transfer efficiency ETR, Chl a, Chl b and total Chl of the calcifuge-type golden Camellia decreased with the increase of Ca<sup>2+</sup> concentration, which indicated that the photosynthetic capacity of these two species decreased under the high calcium environment; while these indexes in the calcicole-type golden Camellia did not change significantly under different Ca<sup>2+</sup> concentration, indicating high calcium environment did not affect its normal photosynthesis. The content of malondialdehyde and the PSII maximum photochemical efficiency  $F_v/F_m$  of the calcifuge-type golden Camellia did not change significantly under high calcium environment, indicating that its photosynthetic membrane system has not been damaged. With the increase of Ca<sup>2+</sup> concentration, the proline content of the calcifuge-type golden Camellia increased significantly, while the soluble sugar content did not change much; the proline and soluble sugar content in calcicole-type golden Camellia were not obviously changed under different Ca<sup>2+</sup> concentration, and the soluble sugar content in calcicole-type golden Camellia was significantly higher than that of the calcifuge-type golden Camellia. Calcicole-type golden Camellia were not sensitive to the external calcium concentration, it's physiological mechanism of adaptation to high calcium may be related to the higher content of soluble sugar in leaves. However, the adaptability of calcifuge-type Camellia to high calcium environment is poor, which may be the main reason for its inability to grow on calcareous soil.

**Key words:** Golden Camellia, calcicole, calcifuge, photosynthesis, fluorescence, physiology

钙是植物生长必需的营养元素,是构成细胞壁和细胞膜的重要组分,对维持细胞结构的稳定性,调节无机离子运输等方面起着至关重要的作用(Kinzel, 1989);同时,钙也是植物体内重要的信号分子,参与植物生长发育、光合作用电子传递和光合磷酸化、激素调控等,对其生理活动进行广泛调节(Poovaiah & Reddy, 1993; Marschner, 1995)。因此植物对钙的吸收、转运和储存对其生理功能有重要影响(White & Broadley, 2003)。高浓度的Ca<sup>2+</sup>也是一种细胞毒害剂,如果细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度过高,将会与磷酸反应形成沉淀,从而扰乱与磷代谢有关的生理过程,或妨碍正常的信号转导进而影响植物生长(White & Broadley, 2003; Hirschi, 2004)。喀斯特喜钙植物通过一系列形态或生理功能的调整适应高钙环境,如将吸收的钙合成草酸钙晶体储藏在组织和细胞间隙内(Webb, 1999; Franceschi & Nakata, 2005);形成钙化根沉积一部分钙(Musetti & Favalim, 2003);降低根系对钙的吸收(Mcconnaughey & Whelan, 1997);或通过调节某些生理活性物质的变化来适应高钙环境(张宇斌等, 2008; 黄芬等, 2008)。而大多数生长在酸性土上的嫌钙植物对高钙环境相当敏感,一部分嫌钙植物因土壤中过高的钙含量而影响其生长(Silva et al., 1994; Vicherová et al., 2015);还有相当一部分嫌钙植物不能在钙质石灰土上生长是因为存在P或Fe的限制(Tyler, 1996; Zohlen & Tyler, 2000)。

金花茶组(*Camellia*, Sect. *Chrysantha* Chang)植物系山茶科山茶属常绿灌木或小乔木,因其开黄色的茶花而著称于世,是珍稀的观赏植物和培育杂交茶花新品种的种质资源(韦霄等, 2006)。金花茶组植物主要分布在我国广西西南部的防城、龙州、宁明、扶绥、大新及

越南凉山等地（张本能和黄广宾，1986），分布区的植被类型主要是北热带石灰岩常绿阔叶林、石灰岩山地季雨林和南亚热带常绿阔叶林（苏宗明和莫新礼，1988），以海拔 120-350 m 之间的山间沟谷、溪边以及石灰岩坡麓、峰槽谷地较为常见（梁盛业，1989）。根据金花茶组植物生长土壤的不同，可分为石灰土金花茶和酸性土金花茶两大类，前者 11 种，分布于石灰岩山地（石山区）；后者 7 种，分布于砂、页岩山地（土山区）（张宏达和任善湘，1998）。在自然情况下，尚未发现同一种类的金花茶可以在两类不同性质的土壤上出现（苏宗明和莫新礼，1988）。与砂页岩地区相比，石灰岩地区土壤一般具有富钙偏碱的特性。前期研究表明，石灰土金花茶在酸性土上也能长势良好（葛玉珍等，2009），而酸性土金花茶在石灰土上生长不良或死亡（未发表资料）。根据植物生长对土壤钙质的依赖程度（候学煜，1954），可将分布于石灰土的金花茶归为喜钙型金花茶，而分布于酸性土的金花茶归为嫌钙型金花茶。喜钙型金花茶对高钙环境有很好的适应性，这是否与某些生理活性物质的调节有关？嫌钙型金花茶不能在钙质土上正常生长，高浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  是否是其长势不良的主要原因？为此，本试验以分布于两类不同土壤的喜钙型金花茶和嫌钙型金花茶为材料，通过比较两类金花茶对不同浓度外源  $\text{Ca}^{2+}$  的光合和生理响应的差异，探讨喜钙型金花茶对高钙环境的适应机制，分析嫌钙型金花茶的避钙机理。研究结果将有助于深入认识金花茶组植物生境多样性的形成及适应机制，为这一珍贵类群的生物多样性保育提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

本试验在广西桂林市雁山区广西植物研究所温室大棚内进行。金花茶为阴生植物，通过黑色尼龙网遮阴，搭建相对光强为 15% 的荫棚（中午光合有效辐射为  $250\sim300\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ），以开展相关试验。试验材料为喜钙型金花茶和嫌钙型金花茶各 2 种（均为 2 年生扦插苗），喜钙型金花茶为直脉金花茶（*Camellia multipetala*）和柠檬金花茶（*C. limonia*），嫌钙型金花茶为金花茶（*C. nitidissima*）和东兴金花茶（*C. tunghinensis*），选取长势较好、基径、高度相对一致的苗木进行试验。

### 1.2 试验处理

采用盆栽控制试验，以石英砂作栽培基质，霍格兰氏（Hoagland's）改良营养液为母液，通过添加乙酸钙  $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  配置不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的营养液（分别为 5、25、50 和  $100\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ），其中  $5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度用以模拟酸性土中交换态钙含量， $100\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  模拟石灰土中交换态钙含量。栽培基质为 60 目的石英砂，使用前先将石英砂用 0.5% 盐酸浸泡 1 d，之后用自来水清洗至中性。将洗净的石英砂装入塑料盆内（直径 35 cm，高 22 cm，底部带排水孔），每盆 13 kg，上沿空出约 2 cm，以便水和营养液的浇灌。选择阴天进行苗木移栽，移栽前将苗木根系洗净。每盆栽种 3 株同种苗木，每处理 5 盆，四个物种共计 80 盆 240 株苗木。移栽后缓苗 1 个月，待植株恢复生长后进行试验，缓苗期间用无钙的 1/4 Hoagland 和 Aron 营养液进行浇灌。试验开始后，每隔 2 d 浇灌 1 次营养液，每盆 300 mL，每 10 d 用大量的纯净水淋洗基质，以保持基质中营养浓度处于可控水平。2018 年 6 月下旬开始试验，处理 4 个月后，测定各项试验指标。

### 1.3 测定项目和方法

试验结束后，选择植株顶端向下第 3~5 片成熟功能叶，进行气体交换参数、叶绿素荧光、叶绿素、丙二醛、脯氨酸和可溶性糖等各项指标的测定。

#### 1.3.1 气体交换参数的测定

采用 LI-6400 便携式光合测定系统分析仪（USA, LI-COR）测定苗木在不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下的净光合速率（ $P_n$ ）、蒸腾速率（ $T_r$ ）、气孔导度（ $G_s$ ）和胞间  $\text{CO}_2$  浓度（ $C_i$ ）等光合气体交换参数。测定时间为 9:00~11:00，测定时光合有效辐射设置为  $300\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，控制叶室温度为

28℃, 样本室 CO<sub>2</sub> 浓度为 370 mmol·mol<sup>-1</sup>。每处理测定 8 株, 每株测定 1 片叶, 取其平均值。

### 1.3.2 叶绿素荧光参数的测定

在清晨阳光直射前选取叶片, 暗适应 20 min 后, 用 Mini-Imaging-PAM 调制叶绿素荧光成像系统(德国, WALZ 公司)测定叶片的叶绿素荧光参数。先用测量光(强度为 0.1 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)测定初始荧光  $F_0$ , 随后用饱和光 6000 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> 脉冲(脉冲时间 0.8 s)激发产生最大荧光 ( $F_m$ )。用光化光(强度为 55 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)诱导荧光动力学曲线, 测定叶片光适应下的最小荧光 ( $F_0'$ )、最大荧光 ( $F_m'$ ) 和稳定荧光 ( $F_s$ ), 并由 Wincontrol-3 软件计算光系统 II (PSII) 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、实际光化学效率 ( $\Phi_{PSII}$ ) 和光合电子传递速率 (ETR)。每处理测定 6 株, 每株测定 1 片叶, 取其平均值。

### 1.3.3 叶绿素含量的测定

用 95% 乙醇提取叶片叶绿素, 测定提取液在波长 665 nm 和 649 nm 下吸光值, 按公式计算出叶绿素 a (Chl a)、叶绿素 b (Chl b) 的含量及 Chl a/Chl b 的比值(李合生, 2000)。

### 1.3.4 丙二醛、脯氨酸和可溶性糖的测定

丙二醛 (MDA) 含量采用硫代巴比妥酸比色法测定, 脯氨酸 (Pro) 含量采用磺基水杨酸法测定, 可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定(李合生, 2000)。

## 1.4 数据处理

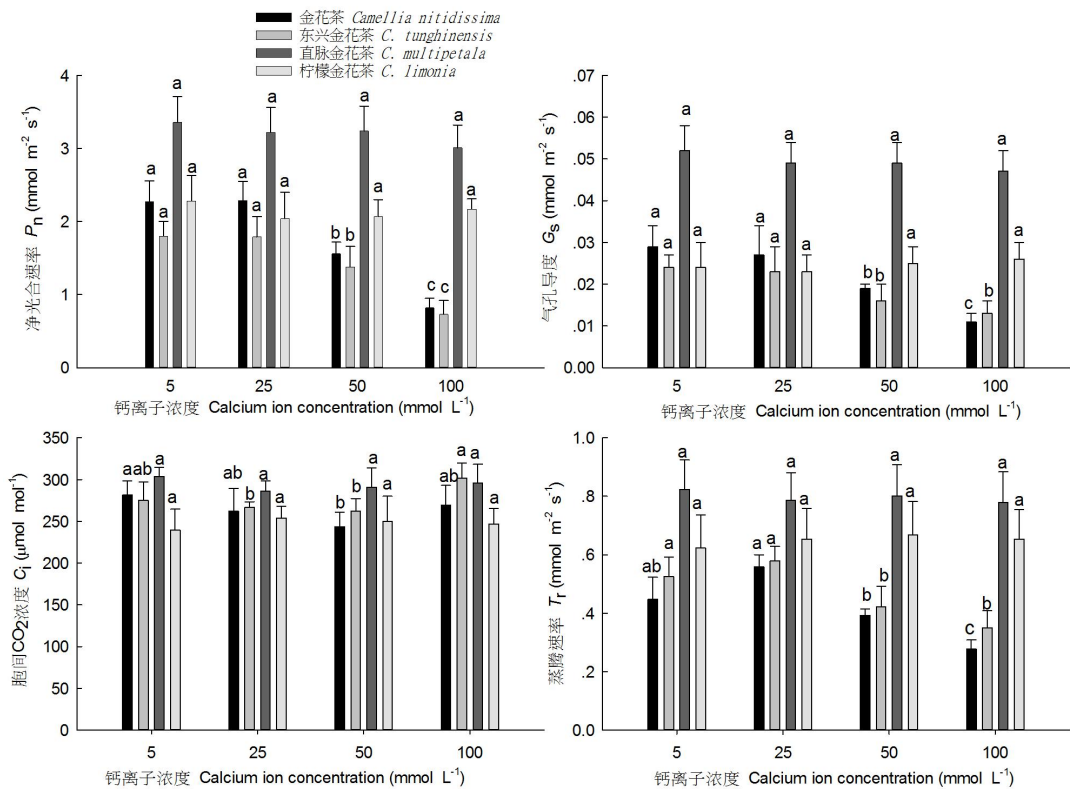
对上述测定的各指标, 利用 SPSS18.0 软件进行方差分析及显著性检验 (Duncan 法, 显著性水平  $P=0.05$ ), 用 Sigma Plot 12.5 绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同 Ca<sup>2+</sup>浓度对四种金花茶气体交换参数的影响

随着 Ca<sup>2+</sup>浓度的升高, 嫌钙型金花茶的净光合速率  $P_n$  呈降低趋势, 金花茶和东兴金花茶在 50 和 100 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>处理下, 其  $P_n$  显著低于 5 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>处理, 与 5 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>处理相比, 金花茶在 50 和 100 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>处理下的  $P_n$  分别下降 31.3% 和 63.9%, 东兴金花茶则分别下降 23.3% 和 59.4%; 两种金花茶在 25 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>处理下的  $P_n$  与 5 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>处理无显著差异 (图 1)。直脉金花茶和柠檬金花茶的  $P_n$  在不同 Ca<sup>2+</sup>处理下无显著差异 (图 1)。气孔导度  $G_s$  的变化趋势与  $P_n$  类似, 两种嫌钙型金花茶的  $G_s$  随 Ca<sup>2+</sup>浓度的升高而降低, 而两种喜钙型金花茶在不同 Ca<sup>2+</sup>处理下无显著变化 (图 1)。金花茶和东兴金花茶的胞间 CO<sub>2</sub> 浓度  $C_i$  随 Ca<sup>2+</sup>浓度的升高, 呈先降低后升高趋势, 且均是在 50 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>处理下最小, 分别为(243.70±17.30) μmol·mol<sup>-1</sup> 和(261.87±15.53) μmol·mol<sup>-1</sup>; 直脉金花茶和柠檬金花茶在不同 Ca<sup>2+</sup>浓度处理下, 其  $C_i$  的变化并不明显 (图 1)。两种嫌钙型金花茶的蒸腾速率  $T_r$  随 Ca<sup>2+</sup>浓度的升高, 呈先升高后降低趋势, 而两种喜钙型金花茶的  $T_r$  在不同钙浓度下并无显著差异 (图 1)。





注：同种植物不同小写字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异。

Note: Data with different lowercase letters between different treatments in the same species represents significant difference at 0.05 level.

图 1 不同钙浓度下四种金花茶的光合气体交换参数

Fig. 1 Photosynthetic gas exchange parameters of four golden Camellia species under different calcium concentrations

2.2 不同 Ca<sup>2+</sup>浓度对四种金花茶叶绿素荧光参数的影响

随着 Ca<sup>2+</sup>浓度的升高，四种金花茶的 PSII 最大光化学效率  $F_v/F_m$  无显著变化，基本都在 0.8 以上（表 1），表明四种金花茶的 PSII 原初光能转化效率并未明显降低，其 PSII 反应中心还未受到伤害。两种嫌钙型金花茶的实际光化学效率  $\Phi_{PSII}$  和电子传递效率 ETR 随 Ca<sup>2+</sup>浓度的升高呈降低趋势，表明高钙处理降低了嫌钙型金花茶的实际光能转换效率，光合电子传递受到影响，进而降低其光合能力；喜钙型金花茶在不同 Ca<sup>2+</sup>处理下的  $\Phi_{PSII}$  和 ETR 无显著变化，表明高钙处理并未对其光合作用的正常进行产生影响（表 1）。

表 1 不同钙浓度下四种金花茶的叶绿素荧光参数

Table 1 Chlorophyll fluorescence parameters of four golden Camellia species under different calcium concentrations

物种 Species	钙浓度 Calcium concentration (mmol·L <sup>-1</sup> )	最大光化学效率 Maximum photochemical efficiency $F_v/F_m$	实际光化学效率 Actual photochemical efficiency $\Phi_{PSII}$	电子传递速率 Electron transfer rate ETR
金花茶	5	0.815±0.011a	0.636±0.054a	14.68±1.24a

<i>Camellia</i>	25	0.820±0.011a	0.641±0.053a	14.80±1.25a
<i>nitidissima</i>	50	0.817±0.007a	0.633±0.037a	14.64±0.84a
	100	0.805±0.028a	0.578±0.065b	12.85±1.13b
	5	0.811±0.006a	0.642±0.012a	14.82±0.32a
东兴金花茶	25	0.807±0.006a	0.630±0.028a	14.55±0.62a
<i>C. tunghinensis</i>	50	0.813±0.004a	0.618±0.019a	14.30±0.46a
	100	0.799±0.011a	0.537±0.04b	12.42±0.24b
	5	0.816±0.011a	0.639±0.021a	14.75±0.48a
直脉金花茶	25	0.818±0.008a	0.622±0.010a	14.36±0.27a
<i>C. multipetala</i>	50	0.824±0.007a	0.642±0.008a	14.85±0.76a
	100	0.826±0.009a	0.631±0.03a	14.35±0.24a
	5	0.812±0.011a	0.656±0.017a	15.15±0.40a
柠檬金花茶	25	0.820±0.005a	0.638±0.025a	14.78±0.58a
<i>C. limonia</i>	50	0.824±0.005a	0.627±0.068a	14.50±1.56a
	100	0.823±0.006a	0.630±0.043a	14.62±0.98a

注：同种植物同列不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ），下同。  
Note: Data with different lowercase letters in the same column of the same species are significantly different ( $P<0.05$ ). The same below.

2.3 不同  $\text{Ca}^{2+}$ 浓度对四种金花茶叶片叶绿素含量的影响

叶片中的光合色素参与光合作用过程中光能的吸收、传递和转化，光合色素含量直接影响植物的光合能力。随着  $\text{Ca}^{2+}$ 浓度的升高，两种嫌钙型金花茶叶片的 Chl a、Chl b 和 Chl (a+b) 含量均呈降低趋势，在 50 和 100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}^{2+}$ 处理下 3 个指标均显著低于 5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}^{2+}$ 处理；Chl a/Chl b 的值在不同  $\text{Ca}^{2+}$ 浓度下并无显著差异（表 2）。两种喜钙型金花茶在不同  $\text{Ca}^{2+}$ 浓度处理下的 Chl a、Chl b、Chl (a+b)、Chl a/Chl b 值的变化并不明显（表 2）。

表 2 不同钙浓度下四种金花茶叶片叶绿素含量及比例  
Table 2 Chlorophyll content and proportion of four golden *Camellia* species under different calcium concentrations

物种	钙浓度	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素总量	叶绿素 a/b
Species	Calcium concentration (mmol·L <sup>-1</sup> )	Chl a (mg·g <sup>-1</sup> )	Chl b (mg·g <sup>-1</sup> )	Chl (a+b) (mg·g <sup>-1</sup> )	Chl a/Chl b
金花茶 <i>Camellia nitidissima</i>	5	2.27±0.15a	0.88±0.04a	3.16±0.14a	2.56±0.21a
	25	1.98±0.16ab	0.80±0.04ab	2.78±0.19ab	2.46±0.18a
	50	1.74±0.16b	0.69±0.03b	2.43±0.15b	2.51±0.25a
	100	1.59±0.14b	0.55±0.03c	2.13±0.12b	2.71±0.38a
东兴金花茶 <i>C. tunghinensis</i>	5	1.55±0.13a	0.65±0.04a	2.20±0.18a	2.37±0.18a
	25	1.49±0.15a	0.63±0.03a	2.12±0.20a	2.36±0.20a
	50	1.27±0.16b	0.54±0.04b	1.81±0.19b	2.35±0.19a
	100	1.19±0.12b	0.52±0.03b	1.71±0.17b	2.29±0.10a
直脉金花茶 <i>C. multipetala</i>	5	2.07±0.20a	0.81±0.06a	2.88±0.26a	2.55±0.05a
	25	2.04±0.19a	0.82±0.08a	2.87±0.27a	2.48±0.06a
	50	1.86±0.15a	0.76±0.05a	2.62±0.18a	2.45±0.08a

柠檬金花茶 <i>C. limonia</i>	100	1.96±0.02a	0.86±0.03a	2.83±0.04a	2.28±0.08a
	5	2.27±0.26a	0.83±0.08a	3.10±0.34a	2.73±0.06a
	25	2.26±0.14a	0.83±0.06a	3.09±0.22a	2.74±0.07a
	50	2.35±0.11a	0.84±0.04a	3.19±0.14a	2.81±0.08a
	100	2.20±0.15a	0.81±0.04a	3.10±0.19a	2.73±0.09a

2.3 不同 Ca<sup>2+</sup>浓度对四种金花茶叶片丙二醛、脯氨酸和可溶性糖含量的影响

丙二醛（MDA）是脂质过氧化作用的主要产物之一，其含量的高低在一定程度上反映脂膜过氧化作用水平和膜结构的受害程度。在不同 Ca<sup>2+</sup>浓度处理下，四种金花茶的 MDA 含量均无显著差异（表 3），表明高钙处理还未使四种金花茶的光合机构膜系统受到明显破坏。

脯氨酸（Pro）具有较强的水合力，它的积累可增加植物的抗旱或抗渗透胁迫能力。两种嫌钙型金花茶的 Pro 含量均随 Ca<sup>2+</sup>浓度的升高而显著增加，与 5 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>处理相比，25、50 和 100 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>处理下金花茶叶片的 Pro 含量分别提高了 0.70、1.31 和 1.94 倍，东兴金花茶分别提高了 0.89、2.01、3.28 倍；而两种喜钙型金花茶的 Pro 含量在不同 Ca<sup>2+</sup>处理下变化并不大（表 3）。

两种嫌钙型金花茶的可溶性糖含量随 Ca<sup>2+</sup>浓度的升高表现为先降低后升高趋势；喜钙型金花茶中，直脉金花茶在不同 Ca<sup>2+</sup>浓度下无明显变化，柠檬金花茶则表现为先升高后降低趋势（表 3）。两种喜钙型金花茶的可溶性糖含量明显高于嫌钙型金花茶，这可能与其适应高钙环境有关。

表 3 不同钙浓度下四种金花茶叶片丙二醛、脯氨酸和可溶性糖含量  
Table 3 MDA, Pro, and soluble sugar contents of four golden Camellia species under different calcium concentrations

物种 Species	钙浓度 Calcium concentration (mmol·L <sup>-1</sup> )	丙二醛 Malondialdehyde (mmol·g <sup>-1</sup> )	脯氨酸 Proline (μg·g <sup>-1</sup> )	可溶性糖 Soluble sugar (mg·g <sup>-1</sup> )
金花茶 <i>Camellia nitidissima</i>	5	0.06±0.00a	5.41±1.20a	12.10±1.54a
	25	0.06±0.00a	9.17±2.17b	7.35±1.10c
	50	0.06±0.01a	12.51±3.95c	7.49±0.49c
	100	0.07±0.01a	15.90±4.54d	9.64±1.16b
东兴金花茶 <i>C. tunghinensis</i>	5	0.03±0.00a	7.01±1.52a	10.88±2.19ab
	25	0.03±0.00a	13.27±1.05b	10.71±1.31ab
	50	0.03±0.00a	21.07±2.82c	8.60±1.31b
	100	0.04±0.01a	29.99±3.56d	12.17±0.81a
直脉金花茶 <i>C. multipetala</i>	5	0.06±0.01a	7.04±1.18a	27.23±2.68a
	25	0.05±0.01a	5.83±0.55a	22.78±3.27a
	50	0.06±0.01a	5.71±0.42a	21.60±1.49a
	100	0.05±0.01a	6.19±0.64a	27.74±5.65a
柠檬金花茶 <i>C. limonia</i>	5	0.06±0.02a	4.67±0.94b	19.95±1.02b
	25	0.06±0.02a	4.89±0.94b	28.74±4.81a
	50	0.07±0.01a	5.79±0.45ab	25.31±0.89ab
	100	0.06±0.01a	6.51±1.81a	21.79±1.93b

### 3 讨论与结论

不同类型植物对外源  $\text{Ca}^{2+}$  的需求存在差异, 喜钙植物通常在整个生活史或某一生长发育阶段强烈依赖土壤中的高  $\text{Ca}^{2+}$  环境, 表现出嗜钙特性, 而嫌钙植物在高  $\text{Ca}^{2+}$  环境下长势不良 (苏迪等, 2012)。本试验中, 两种喜钙型金花茶的  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $C_i$ 、 $T_r$  等光合参数几乎不受外界钙浓度的影响, 在  $5\sim 100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  浓度下, 这几个指标几乎保持稳定, 表明喜钙型金花茶对外界钙浓度的变化并不敏感。这与其他一些喜钙植物在不同钙浓度下的表现并不完全一致, 如喜钙树种伞花木 (*Eurycorymbus cavaleriei*) 随外源钙浓度的升高, 其叶长、叶宽、叶形指数、植株高度和茎粗等指标均显著增加 (苏迪等, 2012); 三种喀斯特喜钙苔藓植物必须在一定的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下才能生长良好, 在低钙环境下不能生长或长势不良 (陈蓉蓉等, 1998); 随着  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高, 石灰土专属种柳叶蕨 (*Cyrtogonellum Ching*) 的  $P_n$  在  $30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理下最高, 在  $100$  和  $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理下呈下降趋势 (罗绪强等, 2013)。表明不同喜钙植物对钙的需求并不完全一致。

随  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高, 两种嫌钙型金花茶的  $P_n$  和  $G_s$  呈降低趋势,  $C_i$  表现为先降低后升高,  $T_r$  则表现为先升高后降低。与  $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理相比,  $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理下的  $P_n$ 、 $G_s$  和  $T_r$  均无显著变化, 表明  $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理并未对金花茶和东兴金花茶的生长产生不良影响; 在  $50$  和  $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理下, 这几个指标均显著降低, 表明高于  $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理降低了两种嫌钙型金花茶的光合速率, 使其生长受到影响, 这与对其它一些嫌钙植物的研究结果相类似。随着钙浓度的升高, 茶树 (*Camellia sinensis*) 的  $P_n$  和  $G_s$  逐渐降低, 其节间距、新梢长度、展叶数、叶面积均明显低于对照 (王跃华等, 2010); 嫌钙植物大白杜鹃 (*Rhododendron decorum*) 叶长、叶宽、叶形指数等指标随外源钙浓度的升高表现出逐步下降的趋势 (苏迪等, 2012)。在  $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理下, 嫌钙型金花茶  $P_n$  降低的同时伴随  $C_i$  的降低, 表明此时两种金花茶净光合速率降低可能主要由气孔限制因素引起, 而在  $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理下,  $P_n$  降低伴随  $C_i$  的升高, 此时净光合速率的降低可能主要由非气孔因素引起 (Farquhar & Sharkey, 1982), 比如与叶片叶肉细胞羧化能力或叶绿素含量降低有关 (Candana & Tarhanb, 2005; 罗绪强等, 2013)。

叶绿素荧光可以作为光合作用的探针, 叶绿素荧光技术的发展为估算叶片吸收光能的分配与光合电子传递速率提供了可能 (Anderson, 1999; 孙金春等, 2011)。在  $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理下, 两种嫌钙型金花茶的  $F_v/F_m$  与其他 3 个处理相比稍有降低, 但并无显著差异 ( $P>0.05$ ), 表明高钙处理下嫌钙型金花茶叶片的光合潜力并未明显降低; 这与其他一些嫌钙植物在高钙环境下  $F_v/F_m$  明显降低并不一致 (王跃华等, 2010; 王程媛等, 2012), 这是否与胁迫时间不够, 还未对其膜系统产生伤害有关, 还有待进一步研究, 该结果与高钙胁迫下其叶片 MDA 含量无显著升高相一致。两种嫌钙型金花茶在  $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理下的  $\Phi\text{PSII}$  和 ETR 显著低于其他处理, 表明高钙环境下其 PSII 反应中心捕获光能效率和光合电子传递速率均降低, 进而影响光合作用的正常进行。在不同  $\text{Ca}^{2+}$  处理下, 两种喜钙型金花茶的  $F_v/F_m$ 、 $\Phi\text{PSII}$  和 ETR 均未有显著差异, 表明其光系统运行正常, 光合作用未受影响, 这与光合参数的表现相一致。

叶绿素含量是反映光合器官生理状况的重要值指标, 其含量在一定程度反映了植物生长状况和光合作用能力, 也可表征逆境中植物组织、器官的衰老状况 (Nieva et al., 2005; 梁小红等, 2015)。研究表明, 喜钙植物叶片中叶绿素含量随外界钙浓度的升高而增加, 光合能力随之增强 (张习敏等, 2013), 而嫌钙植物在过量钙胁迫下, 叶片叶绿体膜受到损伤, 叶绿素含量降低, 光合作用受抑制 (王跃华等, 2010; 申加枝等, 2014)。本实验中, 随着  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高, 嫌钙型金花茶叶片 Chl a、Chl b、Chl 总量均呈降低趋势, 尤其是在  $50$  和  $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理下, 显著低于  $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$  处理, 表明高钙环境下两种嫌钙型金花



茶的光合色素代谢紊乱, 叶绿素的合成受到抑制, 造成叶片捕光能力和光合活性降低, 光合能力下降。在不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下, 两种喜钙型金花茶叶片叶绿素含量并未有显著差异, 表明喜钙型金花茶对不同钙浓度的适应范围较广, 这可能与低钙环境下喜钙植物仍能保持较强的钙吸收能力有关 (苏迪等, 2012)。

在长期的进化过程中, 植物形成了许多机制抵抗外部逆境条件。在一些逆境条件下植物可以通过增加叶片脯氨酸、可溶性糖等物质的含量来增强其渗透调节能力, 进而提高植物对逆境的抵抗能力 (冯晓英等, 2010), 但也有研究认为, 脯氨酸含量的升高只是植物对逆境条件的一种生理响应 (李昆等, 1999)。本试验中, 虽然嫌钙型金花茶叶片脯氨酸含量随  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高显著增加, 但可溶性糖含量总体变化并不大, 表明嫌钙型金花茶对高钙环境的适应能力有限。两种喜钙型金花茶在不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下叶片脯氨酸和可溶性糖含量变化并不明显, 表明其并未受到胁迫, 对低钙和高钙环境都有很好的适应性, 这与喜钙植物伞花木、狗骨木 (*Swida wilsoniana*) 等在不同钙环境下的表现相类似 (张习敏等, 2013; 张芳等, 2017)。在不同钙浓度下, 喜钙植物云贵鹅耳枥 (*Carpinus pubescens*) 叶片 POD 含量远高于嫌钙植物油茶 (*Camellia oleifera*), POD 的高效表达保证了喜钙植物在受到环境胁迫时能很好地保护其细胞膜结构和其它生理生化过程不受影响 (张宇斌等, 2008)。本试验中, 在不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下, 喜钙型金花茶叶片可溶性糖含量明显高于嫌钙型金花茶, 这可能与 POD 有相类似的效果, 以保证喜钙型金花茶能很好的适应高钙环境。

综上所述, 喜钙型金花茶对外界钙浓度的变化并不敏感, 在高钙和低钙环境下均能正常生长, 其适应高钙的生理机制可能与叶片较高的可溶性糖含量有关; 而嫌钙型金花茶在高钙环境下长势不良, 这很可能是其不能在钙质土上生长的主要原因。

## 参考文献

- ANDERSON JM, 1999. Insights into the consequences of grana stacking of thylakoid membranes in vascular plants: a personal perspective[J]. Aust J Plant Physiol, (26): 625-639.
- CANDANA N, TARHANB L, 2005. Effects of calcium, stress on contents of chlorophyll and carotenoid, LPO levels, and antioxidant enzyme activities in *Mentha*[J]. J Plant Nutr, 28: 127-139.
- CHEN RR, LIU N, YANG S, et al., 1998. The effects of  $\text{Ca}^{2+}$  concentration on growth of four bryophytes from karst area on Qianling mountain[J]. J Guizhou Norm Univ (Nat Sci Ed), 16(1): 4-7. [陈蓉蓉, 刘宁, 杨松, 等.  $\text{Ca}^{2+}$  浓度对黔灵山喀斯特生境中几种苔藓植物生长的影响. 贵州师范大学学报 (自然科学版), 16(1): 4-7.]
- FARQUHAR G D, SHARKEY T D, 1982. Stomatal conductance and photosynthesis [J]. Ann Rev Plant Physiol, 33: 317-345.
- FENG XY, HU ZP, YI Y, 2010. Variation of proline and soluble protein content in leaves of *Eurycorymbus cavaleriei* and *Pinus armandii* under  $\text{Ca}^{2+}$  stress[J]. Guizhou Agric Sci, 38(9): 169-170. [冯晓英, 胡章平, 乙引, 2010.  $\text{Ca}^{2+}$  胁迫下伞花木和华山松脯氨酸及可溶性蛋白质含量的变化[J]. 贵州农业科学, 38(9): 169-170.]
- FRANCESCHI VR & NAKATA PA, 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and function[J]. Annu Rev Plant Biol, 56: 41-71.
- GE YZ, ZOU LX, TANG GT, et al., 2009. Phenological characteristics of 7 species of Sect. *Chrysanth* Chang in Guilin Botany Garden[J]. Acta Agric Jiangxi, 21(4): 59-60. [葛玉珍, 邹丽霞, 唐广田, 等. 2009. 迁地保护下 7 种金花茶的物候特征的初步研究[J]. 江西农业学报, 21(4): 59-60.]
- HIRSCHI KD, 2004. The calcium conundrum, both versatile nutrient and specific signal[J]. Plant

- Physiol, 136: 2438-2442.
- HOU XY, 1954. Indicator plants of acid soil, calcareous soil and saline alkali soil in China[M]. Beijing: Science Press. [侯学煜, 1954. 中国境内酸性土、钙质土和盐碱土的指示植物[M]. 北京: 科学出版社.]
- HUANG F, ZHU MJ, LU Q, et al., 2012. Comparison study on several stress resistance indexes in plant under different calcium contents environment[J]. J Guangxi Norm Univ (Nat Sci Ed), 30(4): 98-103. [黄芬, 朱敏洁, 卢茜, 等, 2012. 不同钙环境下植物几种抗逆境指标的对比研究. 广西师范大学学报(自然科学版), 30(4): 98-103.]
- KINZEL H, 1989. Calcium in the vacuoles and cell walls of plant tissue[J]. Flora, 182: 99-125.
- LI HS, 2000. The experiment principle and technique on plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press. [李合生, 2000. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社.]
- LI K, ZENG JM, ZHAO H, 1999. Drought resistance in relation to free proline in the major tree species in dry and hot river valley of Jinsha[J]. For Res, 12(1): 103-107. [李昆, 曾觉民, 赵虹, 1999. 金沙江干热河谷造林树种游离脯氨酸含量与抗旱性关系[J]. 林业科学研究, 12(1): 103-107.]
- LIANG SY, 1989. Classification of Camellia section Chrysanth and their ecological geographical distribution characteristics[J]. Guangxi For Sci, (1):1-3. [梁盛业, 1989. 金花茶植物分类研究及其生态地理分布特点[J]. 广西林业科学, (1):1-3.]
- LIANG XH, AN MY, SONG Z, et al, 2015. Effects of exogenous glycine betaine on the physiological characteristics of *Zoysia Japonica* under low-temperature stress[J]. Acta Pratacul Sin, 24(9): 181-188. [梁小红, 安勐颖, 宋峥, 等, 2015. 外源甜菜碱对低温胁迫下结缕草生理特性的影响[J]. 草业学报, 24(9): 181-188.]
- LUO XQ, WANG SJ, ZHANG HL, et al., 2013. Effects of calcium concentration on photosynthesis characteristics of two fern plants[J]. Ecol Environ Sci, 22(2): 258-262. [罗绪强, 王世杰, 张桂玲, 等, 2013. 钙离子浓度对两种蕨类植物光合作用的影响[J]. 生态环境学报, 22(2): 258-262.]
- MARSCHNER H, 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants 2nd edn[M]. London: Academic Press.
- MCCONNAUGHEY TA, WHELAN JF, 1997. Calcification generates protons for nutrient and bicarbonate uptake[J]. Earth Sci Rev, 42: 95-117.
- MUSETTI R, FAVALIM A, 2003. Cytochemical localization of calcium and X-ray microanalysis of *Catharanthus roseus* L. infected with phytoplasmas[J]. Micron, 34(8): 387-393.
- NIEVA FJJ, CASYILLO JM, LUQUE CJ, 2005. Ecophysiology of tidal and non-tidal population of the invading cordgrass *Spartina densiflora*: seasonal and diurnal patterns in a Mediterranean climate[J]. Estuar Coast Shelf Sci, 57: 919-928.
- POOVAIAH HW, REDDY ASN, 1993. Calcium and signal transduction in plants[J]. Crit Rev Plant Sci, 12: 185-211.
- SHEN JZ, ZHANG ZF, WANG Y, et al., 2014. Dynamic effects of excessive calcium on biochemical components in young shoots and root growth of tea[J]. Shandong Agr Sci, 46(6): 85-88. [申加枝, 张新富, 王玉, 等, 2014. 钙过量对茶树幼苗叶绿素组成及钙、镁吸收的动态影响[J]. 山东农业科学, 46(6): 85-88.]
- SILVA D, RUIZ LP, ATKINSON CJ, et al., 1994. Physiological disturbances caused by high rhizospheric calcium in the calcifuge *Lupinus luteus*[J]. J Exp Bot, 45(5): 585-590.

- SU D, YI Y, ZHANG XM, et al. 2012. Effect of Exogenous  $\text{Ca}^{2+}$  on Growth of *Eurycorymbus cavaleriei* and *Rhododendron decorum*[J]. Guizhou For Sci Technol, 40(3): 23-27. [苏迪, 乙引, 张习敏, 等, 2012. 外源  $\text{Ca}^{2+}$ 对伞花木和大白杜鹃生长及矿质元素含量代谢的影响[J]. 贵州林业科技, 40(3): 23-27.]
- SU ZM, MO XL, 1988. Geographic distribution of *Camellia* section *Chrysantha* form China[J]. Guihaia, 8(1):75-81. [苏宗明, 莫新礼, 1988. 我国金花茶组植物的地理分布[J]. 广西植物, 8(1): 75-81.]
- SUN JC, ZHANG YH, WEN Q, et al, 2011. Effects of different calcium reagents on photosynthesis characteristics of *Catharanthus roseus*[J]. J Southwest Univ (Nat Sci Ed), 33(6): 74-78. [孙金春, 张扬欢, 温泉, 等, 2011. 不同钙效应剂对长春花光合特性的影响[J]. 西南大学学报(自然科学版), 33(6): 74-78.]
- TYLER D, 1996. Mineral nutrient limitations of calcifuge plants in phosphate sufficient limestone soil[J]. Ann Bot, 77: 649-656.
- VICHEROVÁ E, HÁJEK M, HÁJEK T, 2015. Calcium intolerance of fen mosses: Physiological evidence, effects of nutrient availability and successional drivers[J]. Perspect Plant Ecol, 17: 347-359.
- WANG XY, WANG SY, RONG Y, 2012. The effects of nutrient stress on chlorophyll fluorescence Characteristics of *Diplazium pinfaense*[J]. Earth Environ, 40(1): 23-29. [王程媛, 王世杰, 容丽, 2012. 营养胁迫对薄叶双盖蕨叶绿素荧光特征的影响[J]. 地球与环境, 40(1): 23-29.]
- WANG YH, ZHANG LX, SUN QY, 2010. Effects of excessive calcium fertilization on photosynthetic characteristics and chloroplast ultra-structure of tea tree[J]. Plant Nut Fert Sci, 16(2): 432-438. [王跃华, 张丽霞, 孙其远, 2010. 钙过量对茶树光合特性及叶绿体超微结构的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 16(2): 432-438.]
- WEBB MA, 1999. Cell-mediated crystallization of calcium oxalate in plants[J]. The Plant Cell Online, 11(4): 751-760.
- WEI X, JIANG SY, JIANG YS, et al., 2006. Research progress of *Camellia nitidissima*, a rare and endangered plant[J]. J Fujian For Sci Technol, 33(3): 169-173. [韦霄, 蒋水元, 蒋运生, 等, 2006. 珍稀濒危植物金花茶研究进展[J]. 福建林业科技, 33(3): 169-173.]
- WHITE PJ, BROADLEY MR, 2003. Calcium in plants[J]. Ann Bot, 92: 487-511.
- ZHANG BN, HUANG GB, 1986. The Classification and geographic distribution of golden Camellias[J]. J Wuhan Bot Res, 4(1): 31-42. [张本能, 黄广宾, 1986. 金花茶的分类和地理分布[J]. 武汉植物学研究, 4(1):31-42.]
- ZHANG F, SONG M, PENG WX, et al., 2017. Effects of different calcium concentrations on seedling growth and enzyme activities of two karst plant species[J]. Guihaia, 37(6): 707-715. [张芳, 宋敏, 彭晚霞, 等, 2017. 不同钙浓度对两种岩溶植物幼苗生长及其酶活性的影响[J]. 广西植物, 37(6):707-715.]
- ZHANG HD, REN SX, 1998. Flora of China, the third fascicle in forty-ninth volume [M]. Beijing: Science Press. [张宏达, 任善湘, 1998. 中国植物志, 第 49 卷第 3 分册[M]. 北京: 科学出版社.]
- ZHANG XM, SONG QF, LIU LQ, et al., 2013. Responses of growth and physiology calcicoles and calcifuges to exogenous  $\text{Ca}^{2+}$ [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 33(8): 1645-1650. [张习敏, 宋庆发, 刘伦衍, 等, 2013. 喜钙和嫌钙植物对外源  $\text{Ca}^{2+}$ 的生长生理响应[J]. 西北植物学报, 33(8): 1645-1650.]

- ZHANG YB, ZHANG R, MENG L, et al., 2008. Effect of external calcium on POD activity of calciphile and calcifuge[J]. J Guizhou Norm Univ (Nat Sci Ed), 26(3): 10-12. [张宇斌, 张荣, 冯丽, 等, 2008. 外源  $\text{Ca}^{2+}$ 对喜钙和嫌钙植物 POD 活性的影响[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 26(3): 10-12.]
- ZOHLEN A, TYLER G, 2000. Immobilization of tissue iron on calcareous soil: differences between calcicole and calcifuge plants[J]. Oikos, 89: 95-106.